

PENGARUH MADU TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS HEPAR PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT

Rekha Rakhma Hidayah¹, Siti Amarwati², Hermawan Istadi²

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Monosodium glutamat (MSG) telah dikonsumsi secara luas di dunia sebagai penyedap masakan. Efek MSG dilaporkan dapat menyebabkan *Chinese Restaurant syndrome*, hiperlipidemia, hiperglikemia, dan stres oksidatif. Efek toksik terhadap hepar dilaporkan meningkatkan peroksidasi lipid, kerusakan hepatosit, degenerasi dan nekrosis sel-sel hepatosit. Madu memiliki manfaat yang potensial dalam mengurangi peroksidasi lipid pada jaringan hepar sebagai antioksidan eksogen. Madu memiliki efek hepatoprotektif dan diharapkan dapat memperbaiki derajat kerusakan hepar.

Tujuan: membuktikan pengaruh pemberian madu dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi MSG.

Metode: Penelitian ekperimental laboratorik dengan *Post Test-Only Control Group Design*. Sampel terdiri dari 18 tikus Wistar jantan yang terbagi menjadi 3 kelompok. Kelompok P1, P2, P3 diberi MSG peroral sebesar 6mg/g/hari. Setelah 60 menit, P2 dan P3 diobati dengan madu peroral sebesar 2 g/kg/hari (P2) dan 4 g/kg/hari (P3). Setelah intervensi selama 30 hari, dilakukan pembuatan preparat hepar dan pemeriksaan gambaran mikroskopis. Uji analisis menggunakan *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney*.

Hasil: Pemeriksaan histopatologi menunjukkan sebagian besar terjadi nekrosis zona 2 pada hepar yang diinduksi MSG dan kerusakan ringan (degenerasi parenkimatososa) pada mikroskopis hepar yang diberi madu dosis bertingkat. Hasil uji *kruskal-wallis* memberikan perbedaan yang bermakna pada seluruh kelompok (P1,P2 dan P3) dengan $p=0.000$. Hasil Uji Mann whitney memberikan perbedaan yang bermakna pada P1-P2 ($p=0.000$), P1-P3 ($p=0.000$), namun perbedaan tidak bermakna pada P2-P3 ($p=0.277$).

Kesimpulan: Pemberian madu dosis bertingkat memberikan gambaran mikroskopis hepar yang bermakna.

Kata Kunci: Monosodium glutamat, madu, antioksidan, gambaran mikroskopis hepar

ABSTRACT

THE EFFECT OF HONEY IN LIVER MICROSCOPICS APPEARANCE ON WISTAR RATS INDUCED BY MONOSODIUM GLUTAMATE

Background: Monosodium glutamate (MSG) has been consumed widely as flavor enhancer. The effect of MSG is reported causing Chinese Restaurant Syndrome, hyperlipidemia, hyperglycemia, and oxydative stress. The toxic effect of liver is reported increasing lipid peroxydation, hepatocytes damage, degeneration and necrosis of liver cells. Honey has potential benefit in decreasing lipid peroxydation in liver as exogenous antioxydant. Honey has a hepatoprotective effect and is expected to repair liver damage caused by MSG.

Objective: To prove the effect of multilevel doses of honey administration in liver microscopics appearance on Wistar rats induced by MSG.

Method: Experimental laboratory research with a Post Test-Only Control Group Design. Sample consists of 18 male Wistar rats divided by simple random sampling into 3 groups. Group P1, P2 and P3 were given MSG orally with dose 6mg/g/day. After sixty minutes, P2 and P3 were treated orally with honey at a dose of 2g/200g/day (P2) and 4g/200g/day (P3). After 30 days intervention, all samples were terminated, livers were taken for microscopic. Analysed by Kruskal-Wallis test and Mann Whitney test.

Result: Histopathological examination showed a dominant necrosis 2nd zone in liver induced by MSG and mild damage (parenchym degeneration) in liver microscopic treated by graded doses honey. Kruskal-Wallis test result obtained significant differences between P1,P2, and P3 (p=0.000). Mann Whitney test result obtained significant differences for P1-P2 (p=0.000), P1-P3 (p=0.000) but obtained insignificant differences P2-P3 (p=0,277).

Conclusion: The multilevel doses of honey administration gives a significant difference for liver microscopic appearance on Wistar rats which is induced by MSG.

Keywords: Monosodium glutamate, honey, antioxidant, liver microscopic appearance.

PENDAHULUAN

Monosodium glutamat (MSG) merupakan garam natrium dari asam glutamat yang termasuk asam amino non esensial dan dijumpai berlimpah dari bahan segar di alam.^{1,2} Keamanan penggunaan MSG sendiri masih menjadi kontroversi. *Advisory Committee on Hypersensitivity to Food Constituent* di FDA dan WHO menyatakan konsumsi MSG aman dan tidak berbahaya bagi kesehatan, walaupun telah banyak laporan yang menyatakan sebaliknya.^{3,4} Monosodium glutamat (MSG) banyak dilaporkan bersifat toksik terhadap organ hepar.⁵⁻⁷

Pemberian MSG pada dosis 6 gr pada tikus dewasa secara oral selama 14 hari berturut-turut dapat menghambat perkembangan hepatosit, merangsang efek parasimpatik dan menghasilkan asetilkolin dalam darah sehingga kolinesterase meningkat dalam plasma, masuk ke dalam hepar dan menyebabkan dilatasi vena sentralis, lisis eritrosit, kerusakan hepatosit, nekrosis serta atropi.⁷ Pemberian MSG secara subkutan dengan dosis 4 mg/gr dan 8 mg/gr selama 6 hari pada mencit jantan menyebabkan peningkatan kadar glukosa dan peningkatan glutamat yang menyebabkan adanya peroksidasi lipid, peningkatan kadar *glutathione reductase* (GR) dan protein yang terikat *glutathione* serta penurunan aktivitas enzim *Glutathione Peroksidase* (GPx) dan *Glutathione-S-Transferase* (GST).¹²

Peningkatan glutamat ekstrasel pada kultur sel HepG2 manusia secara in vitro dapat menyebabkan penurunan *glutathione* intrasel, aktivasi 12-*lipoxygenase*, akumulasi peroksida intrasel, aktivasi *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) dependen kanal Ca²⁺, peningkatan

produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) mitokondria, peningkatan α -ketoglutarat dan ion ammonium yang dikatalisa oleh enzim alanin transaminase (ALT) yang mendukung terjadinya kerusakan sel. Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsumsi MSG dapat mengganggu fungsi hepar.^{9,10,11,12} Hepar tidak akan mampu melawan oksidan yang berlebihan akibat MSG tersebut, sehingga hepar membutuhkan antioksidan eksogen. Salah satu antioksidan eksogen ini adalah terkandung di dalam madu. Madu dapat menjadi celah sebagai solusi permasalahan dalam mengantisipasi adanya efek negatif dari MSG khususnya terhadap hepar.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan *Post Test Only Control Group Design*. Perlakuan berupa pemberian dosis bertingkat madu pada tikus wistar jantan yang diberi monosodium glutamat dengan parameter pengukuran variabel yaitu gambaran mikroskopis hepar. Penelitian dilakukan selama 30 hari berturut turut.¹³ P1 : Perlakuan 1, tikus wistar jantan yang diberi pakan standar dengan pemberian akuades per oral ± 10 ml/100grbb tikus secara *ad libitum* dan pemberian MSG per oral dengan dosis 6 mg/grbb dengan bantuan sonde. P2 dan P3 : Perlakuan 2, tikus wistar jantan yang diberi pakan standar dengan pemberian akuades per oral ± 10 ml/100grbb tikus secara *ad libitum* dan pemberian MSG per oral dengan dosis 6 mg/grbb dengan bantuan sonde. Serbuk MSG dilarutkan dalam 1 ml akuades. Setelah 60 menit pemberian MSG, diberikan madu dengan dosis 2g/200gr pada P2 dan 4g/200g pada P3. Perlakuan 2 dan 3 dilakukan selama 30 hari berturut turut.

Populasi dari penelitian ini adalah tikus wistar jantan. Sampel penelitian diambil dari populasi secara acak dan memenuhi kriteria inklusi, eksklusi, dan *drop out*. Kriteria inklusi: Umur 2 – 3 bulan dan berat badan rata-rata $100-200 \pm 20$ gram. Kriteria Eksklusi: terdapat kecacatan anatomis. Kriteria *drop out*: terdapat kecacatan anatomis selama penelitian dan mati selama penelitian. Penentuan besar sampel minimal yang digunakan menurut *Intitutional Animal Care And Use Comitee Guidebook* dan *World Health Organization* (WHO) adalah 5 ekor tiap kelompok dengan menganut prinsip 3R (*Replacement, Reduction and Refinement*).^{14,15,16}

Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah 15 ekor tikus strain wistar jantan, tiap kelompok masing masing sejumlah 5 ekor dan untuk mengantisipasi dikeluarkannya tikus akibat adanya kriteria *drop out*, maka pada tiap kelompok akan ditambahkan satu ekor tikus sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah sebesar 18 ekor. Kriteria penilaian adalah dengan menggunakan kombinasi derajat kerusakan hepar *manja roenigk* dan *Pramyothin* :

Tabel 1. Kriteria Penilaian Kerusakan Hepar (Kategorikal)

Tingkat Perubahan	Nilai
Normal	1 (Normal)
Degenerasi parenkimatosa	2 (Ringan)
Degenerasi hidropik	3 (Sedang)
Nekrosis di zona 3 (Sentrolobuler)	4 (Berat)
Nekrosis luas terbatas pada zona 2	5 (Sangat Berat)
Nekrosis meluas sampai pada zona 1	6 (Paling Berat)

Skala adalah ordinal.

Pada hari ke 31 setelah perlakuan selesai diberikan, semua hewan percobaan dikorbankan dengan dibius terlebih dahulu menggunakan etil alkohol, kemudian dilanjutkan dengan cara dislokasi *vertebra servikalis*, kemudian organ hepar diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin dengan pengecatan HE. Dari setiap tikus dibuat dua sampai tiga preparat jaringan hepar dan tiap preparat dibaca dalam 5 lapangan pandang dengan pembesaran 100x dan 400x. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dan ahli *secara blind* dalam rangka penghindaran subjektifitas. Data yang terkumpul telah diolah terlebih dahulu dengan uji Kappa dan selanjutnya data yang terkumpul dideskripsikan dalam bentuk proporsi untuk masing masing kelompok. Uji hipotesis yang digunakan adalah uji *Kruskall-wallis*. Jika hasil uji *Kruskall-wallis* bermakna, maka akan dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Nilai p dianggap bermakna apabila $p < 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan.

HASIL PENELITIAN

Perlakuan pada P1, P2, dan P3 dilakukan selama 30 hari berturut turut dan tidak didapatkan adanya kriteria eksklusi maupun kriteria *drop-out*, sehingga dapat dilakukan terminasi, pengambilan jaringan dan analisa data pada seluruh sampel penelitian. Terminasi

dilakukan dengan cara dibius eter alkohol terlebih dahulu, kemudian dislokasi vertebra servikalis. Pengambilan organ hepar 18 ekor tikus wistar diambil setelah terminasi untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan pada hari ke-31.

Tabel 2. Uji *kappa* untuk pemeriksaan histopatologi hepar (N=90)

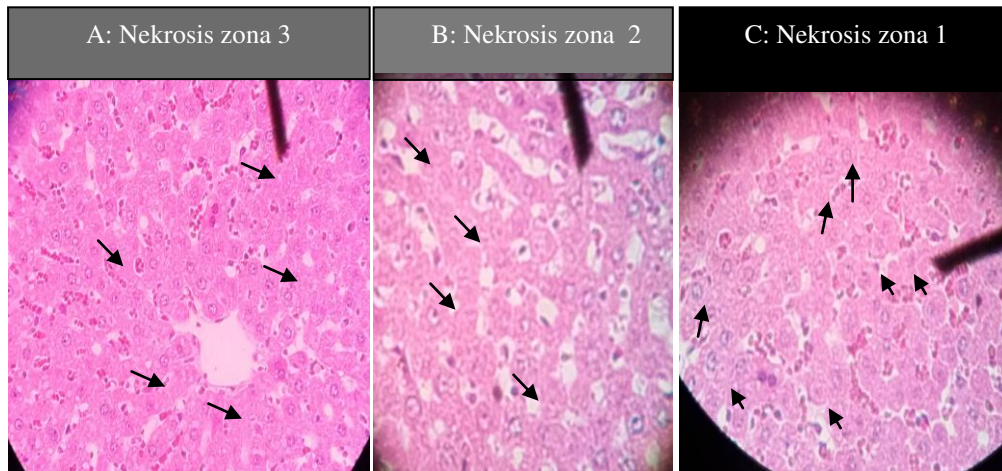
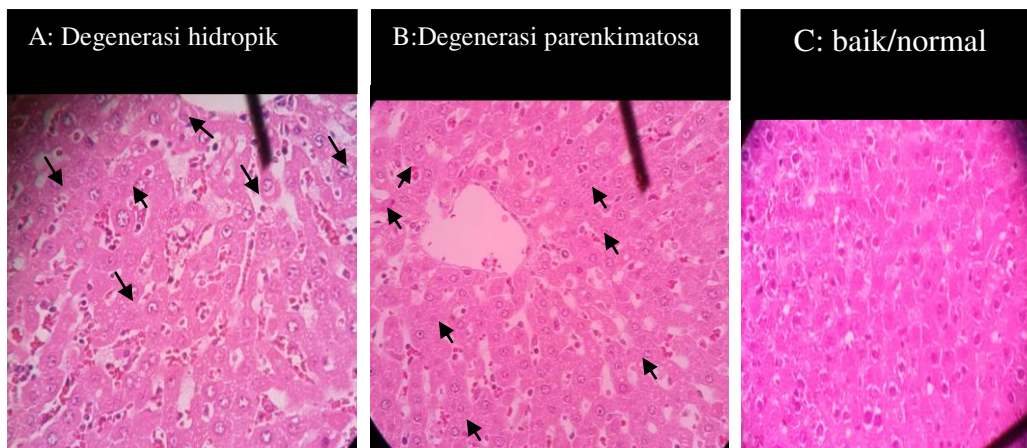
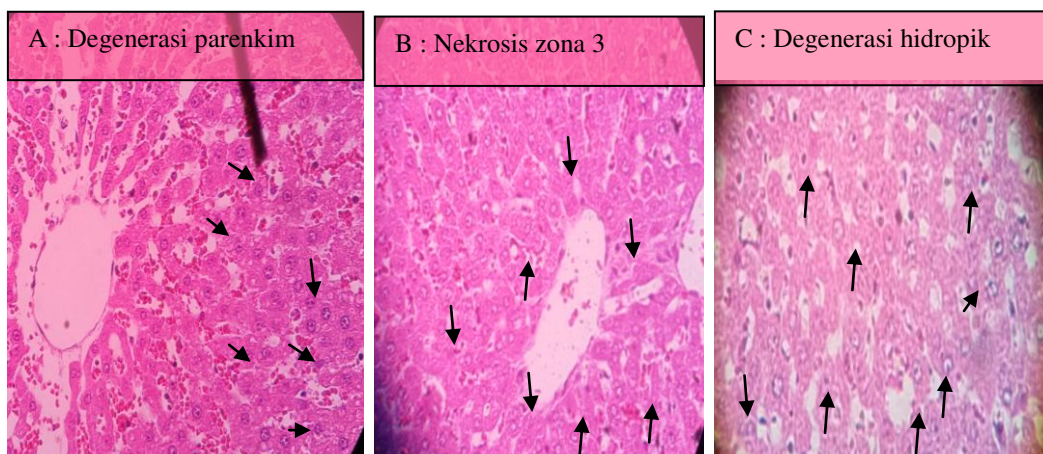
Derajat kerusakan	Peneliti (f/%)						Total
	1	2	3	4	5	6	
Ahli (f/%)							
1	5 (5,6%)	0 (0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	5(5,6%)
2	5(5,6%)	26 (28,9%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	31(34.4%)
3	0(0%)	1(1,1%)	17(18,9%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	18(20%)
4	0(0%)	0(0%)	0(0%)	14(15,6%)	1(1,1%)	0(0%)	15(16.7%)
5	0(0%)	0(0%)	0(0%)	2(2,2%)	14(15,6%)	0(0%)	16(17.8%)
6	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	5(5,6%)	5(5,6%)
Total	10 (11,1%)	27 (30%)	17 (18,9%)	16(17,8%)	15(16,7%)	5(5,6%)	90 (100%)

Measure of agreement *Kappa*=0,873

Keterangan derajat kerusakan hepar

- 1 : sel hepar dalam keadaan baik (normal)
- 2 : degenerasi parenkimatos
- 3 : degenerasi hidropik
- 4 : nekrosis sentrolobuler (zona 3)
- 5 : nekrosis meluas ke zona 2
- 6 : nekrosis meluas ke zona 1

Dari hasil perhitungan, nilai $\kappa = 0.873$ (*excellent*) dengan kesalahan standar sebesar 0.040. Berikut ini merupakan hasil pengamatan mikroskopis hepar yang mewakili kerusakan masing-masing perlakuan.

Gambar 1. Kerusakan Mikroskopis Hepar yang Mewakili Kelompok P1 (400x)**Gambar 2.** Kerusakan Mikroskopis Hepar yang Mewakili Kelompok P2 (400x)**Gambar 3.** Kerusakan Mikroskopis Hepar yang Mewakili Kelompok P3 (400x)

Tabel 3. Hasil Pengamatan Kerusakan histopatologis hepar dan hasil uji hipotesis

P	Derajat kerusakan hepar						jml
	Baik/ Normal	Degenerasi parenkim	Degenerasi hidropik	Nekrosis zona 3	Nekrosis zona 2	Nekrosis zona 1	
P1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4 (13.3%)	5 (16.7%)	16 (53.3%)	5 (16.7%)	30 (100%)
P2	5 (16.7%)	14 (46.7%)	6 (20.0%)	5 (16.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	30 (100%)
P3	0 (0.0%)	17 (56.7%)	8 (26.7%)	5 (16.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	30 (100%)
Σ	5 (5.6%)	31 (34.4%)	18 (20.0%)	15 (16.7%)	16 (17.8%)	5 (5.6%)	90 (100%)

Kruskal-Wallis, $p = 0.000$ ($p < 0.05$)

Mann-Whitney U test; 1 vs 2; $p = 0.000$, 1 vs 3; $p = 0.000$, 2 vs 3; $p = 0.277$

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan perubahan mikroskopis hepar yang bermakna antara kelompok P1 yang hanya diberikan MSG saja dengan kelompok P2 ($p = 0.000$) dan P3 ($p = 0.000$) yang diberikan intervensi madu sebagai antioksidan eksogen, dimana kelompok P1 menunjukkan adanya kerusakan sel-sel hepatosit dalam lobulus hepar mencapai level nekrosis yang meluas hingga zona 2. Kerusakan hepar pada kelompok perlakuan penelitian ini diakibatkan adanya gangguan fungsi hepar yang ditimbulkan MSG melalui berbagai jalur mekanisme toksik.^{7,8,17,18}

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya yang meneliti tentang pengaruh pemberian MSG secara oral terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus selama 14 hari dengan dosis 3 gr dan 6 gr mampu membuktikan adanya perbedaan yang signifikan dibanding dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan MSG. Mekanisme toksik MSG menimbulkan peningkatan akumulasi Ca^{2+} intrasel secara masif, kadar glutamat dan glutamin, peningkatan produksi radikal bebas, terjadinya autooksidasi glikosilasi yang mengganggu proses oksidasi dan peroksidasi lipid mikrosom hepar.^{5,6,8,19}

Peningkatan glutamat ekstrasel dapat menyebabkan penurunan *glutathione* intrasel, aktivasi 12-lypoxigenase, akumulasi peroksida intrasel, aktivasi cyclic guanosine monophosphate (cGMP) dependen kanal Ca^{2+} , peningkatan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) mitokondria, peningkatan α -ketoglutarat dan ion ammonium yang dikatalisa oleh enzim alanin transaminase (ALT) berdasarkan penelitian secara *in vitro* pada sel hepatoma manusia (HepG2) yang mendukung terjadinya kerusakan sel.

Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsumsi MSG dapat mengganggu fungsi hepar yang sejalan dengan hasil penelitian ini.^{9,10,11,12} Akibatnya hepar membutuhkan antioksidan eksogen dalam melawan oksidan yang ditimbulkan MSG. Madu merupakan antioksidan eksogen yang digunakan dalam penelitian ini karena madu merupakan sumber daya alam yang melimpah, kaya akan senyawa aktif antioksidan dan mudah dijangkau, sehingga diharapkan melalui aktivitas antioksidan dengan komponen senyawa fenolik, *chrysin*, *pinobanksin*, vitamin C, vitamin E, beta karoten, SOD (*Superoxide dismutase*), katalase, *pinicembrin*, dan senyawa flavonoid seperti *fisetin*, *kampferol*, *acacetin*, *tamarixetin*, *galangin*, *luteolin*, *quersetin*, dan *apigenin* mampu berpotensi menghambat kerusakan hepar akibat toksisitas dari MSG.²⁰⁻²²

Madu diberikan dengan dosis bertingkat pada kelompok P2 dan P3. Perubahan histopatologi hepar pada kelompok P2 dan P3 sebagian besar menunjukkan derajat kerusakan yang lebih ringan (degenerasi parenkimatosia) dan memberi perbedaan yang bermakna dengan P1. Kesimpulan dari hasil tersebut adalah terdapat pengaruh pemberian madu terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi monosodium glutamat. Meskipun perbedaan bermakna didapatkan dari hasil antarkelompok P1 dan P2 dengan kelompok P2 dan P3, namun antara kelompok yang diintervensi dengan madu dosis yang berbeda (P2 dan P3) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (0.277).

Hal ini menunjukkan bahwa madu dengan dosis dari 2 gram/200gram berat badan pada tikus telah mampu memiliki efek yang optimal dalam menghambat kerusakan akibat MSG dan memiliki manfaat yang sama dengan dosis yang telah ditingkatkan. Hasil penelitian ini sejalan penelitian sebelumnya yang memaparkan bahwa dosis optimal madu yang diberikan untuk manusia dalam melawan adanya stres oksidatif yang ditimbulkan oleh bahan/zat bersifat toksik adalah sebesar 1,5g/kg untuk manusia yang dikonversikan ke dalam dosis pemberian terhadap tikus didapatkan hasil 2 gram/200 gram berat badan tikus.²³⁻²⁶ Efek

protektif madu melalui berbagai mekanisme jalur penghambatan dan perbaikan seperti bersinergistik dan mampu mengoptimalkan fungsi antioksidan alami hepar, menghambat proses peroksidasi lipid, menghambat proses autooksidasi glikosilasi akibat adanya hiperlipidemia dan hiperglikemia oleh MSG yang dapat menimbulkan peningkatan produksi ROS mitokondra dengan mekanisme sebagai *free radical scavenger* dan up-regulasi Nrf2 serta pereduksi inflamasi dengan menginhibisi NO dan PGE2.^{20,27,28}

Penelitian ini memiliki banyak keterbatasan yang dipengaruhi oleh adanya faktor-faktor seperti : Daya tahan tubuh dan kerentanan tikus yang berbeda, Hasil pewarnaan yang menimbulkan pembuatan preparat hepar mencit tidak seragam, dan adanya faktor stres tikus.

SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian MSG mengakibatkan sebagian besar lobulus hepar mengalami kerusakan sangat berat (nekrosis meluas pada zona 2). Pemberian madu peroral memiliki efek protektif terhadap hepar (perbedaan bermakna) terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi MSG dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi madu. Pemberian madu peroral dosis bertingkat tidak memberikan perbedaan yang bermakna pada gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi MSG yang menunjukkan bahwa dosis madu 2g/200g telah memiliki manfaat optimal yang sama dengan dosis yang ditingkatkan dalam memperbaiki kerusakan hepar akibat pemberian MSG.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan dosis, waktu, dan pemeriksaan fungsi hepar dengan enzim seperti γ -glutamil transferase (GGT), alkaline fosfatase (ALP), dan laktat dehidrogenase (LDH) untuk mendapatkan hasil yang lebih komprehensif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang tulus dan tidak terhingga saya sampaikan kepada dr. Siti Amarwati, Sp.PA(K) dan dr. Hermawan Istadi, M.Si.Med yang telah berkenan menjadi pembimbing dan bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan saran serta nasehat baik dalam melakukan penelitian maupun selama mengikuti pendidikan. Saya sampaikan pula rasa terima kasih kepada Dr.dr. Awal Prasetyo, M.Kes, Sp.THT-KL, dr. Desy Armalina dan kepada semua pihak yang telah membantu, yang namanya tidak dapat saya

sebutkan satu persatu. Saya menyadari bahwa penelitian ini masih belum sempurna, namun saya berharap semoga isi dan makna yang terkandung di dalam penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

DAFTAR PUSTAKA

1. Igwebuike, Maduabuchi U, Ada I, Ochiogu, Shedrak I. Effects of oral administration of monosodium glutamate (MSG) on serum testosterone levels and muscle mass. animal research international [Internet]. 2010 [sitasi 20 November 2014];7:1212-7. Available from: Veterenary Medicine University of Nigeria.
2. Jinap S, Hajeb P. Glutamate. Its applications in food and contribution to health. Appetite Journal [Internet]. 2010 [sitasi 21 November 2014];55(1):1-10. Available from: Elsevier Journal.
3. Erb J. The slow poisoning of mankind a report on the toxic effects of the food additive monosodium glutamate. Presented to the Joint FAO/WHO Expert Committee On Food Additives [Internet]. 2006 [sitasi 23 November 2014]; Available from: www.holisticmed.com/msg/TheErbreportonMSGtotheWHO.pdf
4. FDA. Food additives & ingredients – questions and answers on monosodium glutamate (MSG) [Internet]; 1995 [sitasi 30 Januari 2015]; Available from: <http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm328728.htm>.
5. Bhattacharya T, Bhakat A, Ghosh SK. Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure. Nepall Medical College Journal [Internet]. 2011 [sitasi 14 November 2014];13(1):11-6. Available from: National Center for Biotechnology Information (NCBI) Journals.
6. Eweka A, Igbigbi P, Ucheye R. Histochemical studies of the monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. Annals Of Medical And Health Sciences Research [Internet]. 2011 [sitasi 3 Februari 2015];1(1):21-9. Available from: Pubmed Central Journals.
7. Eweka A, F O. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. The Internet Journal of Gastroenterology [Internet]. 2007 [sitasi 5 Februari 2015];6:2. Available from : <https://ispub.com/IJGE/6/2/13548>
8. Choudhary P, Malik VTB, Puri s, Ahluwalia P. Studies on the effects of monosodium glutamate on hepatic microsomal lipid peroxidation, calcium, ascorbic acid and glutathione and its dependent enzymes in adult male mice. Toxicology Letters Journal [Internet].1996[sitasi 3 Desember 2014];89:71-6. Available from: Elsevier Journals
9. Septadina IS. Pengaruh monosodium glutamat terhadap sistem reproduksi. Dipresentasikan pada Seminar Bagian Anatomi; Fakultas kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang 16 Januari 2014.
10. Albrecht P, Lewerenz J, Dittmer S, Noack R, Maher P, Methner A. Mechanisms of oxidative glutamate toxicity: the glutamate/cystine antiporter system xc-as a neuroprotective drug target. CNS Neurology Disorde Journal [Internet]. 2010 [sitasi 14 Februari 2015];9(3):373-82. Available from: Bentham Science.
11. Berkich DA, Xu Y, LaUoue KF, Gruetter R, Hutson SM. Evaluation of brain mitochondrial glutamate and alpha-ketoglutarate transport under physiologic conditions. Journal of Neuroscience Research [Internet].2005 [sitasi 14 Februari 2015];79(1-2):106-13. Available from: Wiley Online Library Journal.

12. Gallagher FA, et al. Detection of tumor glutamate metabolism in vivo using (13)c- glutamate. Magnetic Resonancy Medical Research [Internet].2011 [sitasi 14 Februari 2015];66(1):18-23. Available from: Wiley Online Library Journals.
13. Rosa H. Pengaruh defisiensi pakan terhadap nilai pencernaan nutrien dan pertumbuhan tikus putih jantan dewasa (rattus sp.) [Skripsi]. Bogor: Bagian fisiologi dan Farmakologi IPB; 2001:6-15.
14. WHO (World Health Oraganization). Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines[Internet]. 1993 [Update 2014; sitasi 3 februari 2015]. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2946e/#Jh2946e.5>.
15. WHO: Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks Table of contents. 2010[Sitasi: 22 Desember 2014]:7-65.
16. ARENA (Applied Research Ethics National Association)/OLAW (Office of Laboratoy Animal Welfare). Institutional animal care and use committee guidebook 2nd edition:2002
17. Onyema OO, Farombi EO, Emerole GO, Ukoha AI, Onyeze GO. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. Indian Journal Biochemistry Biophysiology [internet]. 2006 [sitasi 20 Mei 2015];43(1):20-4.Available from : NCBI Journals.
18. Maulida A, Ilyas S, Hutahaeen S. Pengaruh pemberian vitamin C dan E terhadap gambaran histologis hepar mencit (mus musculus l.) yang dipajankan monosodium glutamat [Jurnal Biologi]. 2010 [Sitasi 20 November 2014];15-8.Tersedia dari: Repositori Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
19. Egbuonu a CC, Obidoa O, Ezeokonkwo C a, Ezeanyika LUS, Ejikeme PM. Hepatotoxic effects of low dose oral administration of monosodium glutamate in male albino rats. Journal Biotechnology [Internet]. 2009 [sitasi 14 Mei 2015];8(13):3031-5. Available from: NCBI journals.
20. Erejuwa OO, Sulaiman SA,Wahab MSA. Honey: a novel antioxidant. Molecules Journal [Internet]. 2012[Sitasi: 11 Desember 2014]; 17: 4400-23. Available from: Open Access Molecules Journals
21. Aliyah. Hepatoprotective and hepatoregenerative effects of honey-essence of paliasa produced by apis mellifer a againts carbon tetrachloride induced liver damage in rats [Skripsi]. Makasar: Fakultas Kedokteran UNHAS. 2011:2-10.
22. Gheldof N, Wang X-H, Engesth NJ. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2003 [sitasi 9 Desember 2014];51(5):1500-5. Available from: National Center for Biotechnology Information (NCBI) Journals.
23. Bogdanov S. As Nutrient and Functional food: a review. Bee Product Science [Internet]. 2014 [sitasi 6 November 2014];1-43. Available from: www.bee-hexagon.net
24. Čeksterytė V, Balžekas J, Baltuškevičius , Jurgevičius E. The use of beebread-honey mixture in the treatment of liver diseases in alcohol-dependent patients. Chemistry technology journal [internet]. 2012 [sitasi 25 Mei 2015];60(2):62-6. Available from: NCBI journals.
25. Najafi M, Shaseb E, Ghaffary S, Fakhru A, Oskouei TE. effects of chronic oral administration of natural honey on ischemia/ reperfusion-induced arrhythmias in isolated rat heart. Science York journal [internet]. 2011 [sitasi 2 juni 2015];14(1):75-81. Available from : Iranian journal of basic medical sciences.

26. Schramm DD, et al. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. Journal Agricultural Food Chemistry [internet]. 2003 [sitasi 10 juni 2015];12:1732-5. Available from: NCBI journals
27. Nzeako BC, Al-Namaani F. The antibacterial activity of honey on helicobacter pylori. Sultan Qaboos University medical journal [Internet]. 2006 [Sitasi 20 Desember 2014];6(2):71-6. Available from: Pubmed Central Journals.
28. Kobayashi M, et al. The antioxidant defense system Keap1-Nrf2 comprises a multiple sensing mechanism for responding to a wide range of chemical compounds. Molecular & Cellular Biology Journal [Internet]. 2009 [Sitasi 22 November 2014];29(2):493-502. Available from: American Society for Microbiology Journals.